

201035004A・B

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質：  
個体感受性と暴露量に関するゲノム疫学研究

平成22年度 総括・分担報告書

平成20年度～平成22年度総合研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成23（2011）年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質：  
個体感受性と暴露量に関するゲノム疫学研究

平成22年度 総括・分担報告書  
平成20年度～平成22年度総合研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成23（2011）年 3月

# 目 次

## I 総括研究報告書

男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質：個体感受性と暴露量に関するゲノム疫学研究 . . . . . 1

研究代表者 国立成育医療研究センター研究所 緒方勤

## II 分担研究報告書

1 性ホルモン効果関連遺伝子群のハプロタイプ相関解析とメチル化パターン解析 . . . . . 9

東京大学 大迫誠一郎

2 成育コホート研究における外陰部異常者の胎児期環境評価に関する研究 . . . . . 14

国立成育医療研究センター 大矢 幸弘

3 内・外性器の手術検体採取と患者臨床像解析 . . . . . 16

名古屋市立大学 小島祥敬

4 ダイオキシン関連遺伝子群の網羅的相関解析とバイオインフォマティクスによる影響化学物質の推定解析に関する研究 . . . . . 20

国立環境研究所 曾根秀子

5 ヒトハプロタイプブロックを対象とするイントロンノックインマウスの作製と解析 . . . . . 24

国立医薬品食品衛生研究所 安彦行人

6 各種化学物質の測定と曝露レベルの推定に関する研究 . . . . . 27

東京大学 吉永 淳

7 エストロゲン受容体遺伝子における化学物質感受性ハプロタイプの構造および機能解析 . . . . . 31

国立成育医療センター研究所 緒方 勤

## III 総合研究報告書

男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質：個体感受性と暴露量に関するゲノム疫学研究 . . . . . 37

研究代表者 国立成育医療研究センター研究所 緒方勤

IV 研究成果の刊行一覧表	..... 45
V 研究成果の刊行物・別刷り	..... 59

總 合 研 究 報 告

## 男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質： 個体感受性と暴露量に関するゲノム疫学研究

研究代表者：緒方 勤 国立成育医療研究センター研究所 部長

### 研究要旨

本研究の目的は、男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質の関連性を個体感受性と暴露量の両者の観点から解明することである。その必要性は、その因果関係の解明が環境リスク評価上の重要課題となっていることにある。特に、小児など脆弱な集団を保護する必要性が国際化学物質管理会議で再確認され、個体感受性を勘案した評価スキームの構築が急務となっている。これに関して、われわれは、本研究開始時にエストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子 ESR1 遺伝子の3'領域に約 50 kb の連鎖不平衡領域が存在し、その領域の特定ハプロタイプが男児外陰部異常症発症（尿道下裂、停留精巣）に強く関連し、しかし、精子形成障害とは関連していないことを見いだすと共に、多くの遺伝子の多型解析を開始する用意を整えていた。

このような背景のもと、本研究期間において以下のような成果が得られた。(1) ESR1 における外陰部異常症発症感受性ハプロタイプの解析：この感受性ハプロタイプと絶対連鎖不平衡を示す 2,244 bp の微小欠失の同定（この微小欠失こそが、感受性亢進を招く本質であることを示唆する）、同一ハプロタイプとイタリヤ人男児における外陰部異常症発症の関連性の同定（人種を超えた普遍性を意味する）、外陰部皮膚繊維芽細胞を用いた発現解析の開始（エストロゲン負荷による発現誘導を検討中）、この欠失部位周辺の約 7 kb をノックインしたキメラマウスの作製（健全イントロンのノックインマウスは生存するが、純粋な微小欠失のノックインマウスは致死的であり、この微小欠失が何らかの重要な機能を持つことが示唆される）、を行った。(2) ESR1 における外陰部異常症感受性ハプロタイプの世代間解析：健常者におけるリスクハプロタイプ保有頻度が有意に成人年代に多いことから、環境化学物質の暴露量増加が疾患発症に関与することが示唆される。(3) エストロゲン受容体 $\beta$ 遺伝子 (ESR2)における精子形成障害感受性ハプロタイプの同定：ESR2 に約 60 kb のハプロタイプブロックが存在し、その中の特定ハプロタイプが感受性因子として作用することを世界で初めて見いだした。(4) 化学物質応答遺伝子群の網羅的解析：国際 HapMap 計画の成果に基づくタグ SNP を用いた 96 個の SNP 解析から、ダイオキシシンシグナル伝達関連遺伝子である AHR、と ARNT2、CYP1A2、男性ホルモン産生に関与する CYP17A1、Bisphenol-A 受容体遺伝子とされる NR1H2 において感受性 SNP が同定された。(5) 標的組織におけるメチル化解析：尿道下裂患者 25 例の外陰部皮膚組織を用いて種々の遺伝子のプロモーター領域のメチル化解析を行い、解析した検体中 13 サンプルで SRD5A2 の十分なメチル化ステータスデータが得られた。これら検体の SRD5A2 mRNA レベルをリアルタイム RT-PCR で測定したところ、メチル化頻度と発現レベルに弱い負の相関があることがわかった ( $R^2=0.4053$ ,  $P=0.019$ )。同時に、マウス胎子のダイオキシシン暴露実験を行い、精巣サンプルのメチル化解析を開始した。(6) ダイオキシシン暴露と外陰部異常症の関連の解析：尿道下裂責任遺伝子 MAMLD1 がテストステロン産生に関与すること、MAMLD1 が CYP17A1 発現を特異的に調節すること、MAMLD1 がダイオキシシンによるテストステロン産生低下に関与することを示すもので、ダイオキシシン暴露による外陰部異常症発症機序の解明へと繋がるものと期待される。(7) 化学物質濃度測定：男児生殖器に影響を及ぼす可能性のある化学物質として、抗アンドロゲン作用、エストロゲン作用をもつことが知られている尿中の代謝産物 19 物質が LC/MS/MS あるいは GC/MS により測定することができることが示された。(8) 成育コホート集団の検討：今年度は昨年度から開始した 5 歳時点で化学物質の測定のため血液検体を採取した。また、6 歳時点の成長発育と健康に関するアンケート調査を開始した。これにより、現在の小児の暴露量を直接測定することが可能となった。

これらのデータは、男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質の関連性を、個体感受性と暴露量の観点から解明する上で重要な情報を与えるものである。

## 研究分担者

大迫誠一郎	東京大学大学院医学系研究科、疾患生命工学センター、准教授
曾根秀子	独立行政法人国立環境研究所、環境リスク研究センター、主任研究員
安彦行人	国立医薬品食品衛生研究所、安全性生物試験研究センター、主任研究官
吉永淳	東京大学新領域創成科学研究科、環境システム学専攻、准教授
大矢幸弘	国立成育医療研究センター病院、第一専門診療部アレルギー科、医長
小島祥敬	名古屋市立大学大学院医学研究科、腎・泌尿器科学分野、講師

## A. 研究目的

本研究の目的は、男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質の関連性を個体感受性と暴露量の両者の観点から解明することである。上記の関連性は、動物実験データから示唆されるものの、ヒトにおける疫学データに乏しく、その因果関係の解明は環境リスク評価上の重要課題となっている。特に、小児など脆弱な集団を保護する必要性が国際化学物質管理会議で再確認され、個体感受性を勘案した評価スキームの構築が急務となっている。本研究では、この課題の克服を目指す。

## B. 方法

### 1. エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子 (ESR1) における外陰部異常症感受性ハプロタイプの解析：

多くの環境化学物質は、エストロゲン受容体を介してエストロゲン様効果を発揮することで男性化障害を生じる。われわれは、同遺伝子に約35kbのハプロタイプブロックが存在し、特定ハプロタイプのホモ接合体が顕著な外陰部異常発症感受性（オッズ比：尿道下裂13.75、停留精巣9.0）を有することを世界で初めて見いだした。これは、エストロゲン受容体を介する化学物質の効果が男性性機能低下を招くことを示す内容で、2008年度初めの読売新聞朝刊や日経産業新聞で大きく扱われている。

本研究期間では、ハプロタイプブロック全体の塩基配列解析による感受性ハプロタイプ特有のゲノム変化の同定、感受性および非感受性ハプロタイプホモ接合体における尿道下裂の手術検体を用いた化学物質負荷後のESR1発現量比較、ハプロタイプブロックノックインマウスの作製と化学物質負荷後のEsr1発現量変化と表現型の検討を行う。

### 2. ESR1における外陰部異常症感受性ハプロタイプの世代間解析：

同じリスク因子を有する個体における疾患発症は暴露量に依存すると考えられる。そして、化学物質生産量が漸増していることから、現在の小児は成人世代よりも大きなリスクを有すると推測される。この可能性を異なる世代の健康男児・男性における欠失頻度の比較により検討する。なお、背景として、この欠失が

感受性因子であり、それを保有しても必ずしも疾患を発症するわけではなく、健康である個体は多く存在すること、また、成人世代においては疾患を有する個体の同定は極めて困難であるが、健常者の解析は容易であることが挙げられる。

### 3. エストロゲン受容体 $\beta$ 遺伝子 (ESR2)における精子形成障害感受性ハプロタイプの同定：

生殖細胞では、ESR1ではなくESR2が発現していることから、ESR2の特定多型・ハプロタイプが精子形成障害の感受性因子であるか否かを遺伝的関連解析により検討する。

### 4. 化学物質応答遺伝子群の網羅的解析：

男児外陰部異常症において、男性ホルモン産生経路とダイオキシンシグナル伝達関連を含む網羅的関連解析を、国際HapMap計画の成果を応用し、タグSNPを用いた相関解析を用いて実施する。その後、手術検体を用いた発現量解析や機能解析を行う。

### 5. 標的組織におけるメチル化解析：

環境化学物質は、標的組織におけるメチル化異常とそれに起因する男性ホルモン効果の低下を介して疾患表現型を招く可能性がある。このため、尿道下裂患者の検体を用いて外陰部で発現している遺伝子のメチル化状態を検討する。また、精巣の細胞はヒトでは入手できないため、マウスにおける暴露実験を行い、われわれが発見した尿道下裂責任遺伝子 MAMLD1 などのメチル化解析を行う。

### 6. ダイオキシン暴露と外陰部異常症の関連の解析 (MAMLD1/Mamld1 遺伝子解析)：

われわれが2006年に発見したヒト尿道下裂発症責任遺伝子 MAMLD1 およびそのマウスホモログに着目して解析を行った。MAMLD1/Mamld1 遺伝子は、その変異が尿道下裂を招くこと、性分化臨界期の胎児期精巣において一過性に男性ホルモン(テストステロン)産生ライディック細胞で発現していることから、本研究における重要なテーマである尿道下裂発症機序の解明において極めて有用な遺伝子である。

### 7. 化学物質濃度測定：

患者・母親血液、臍帯血、臍帯、胎盤におけるダイオキシン類、PCB、有機塩素系農薬、ビスフェノールA、フタル酸エステル類を質量分析ガスクロマトグラフおよび質量分析液体クロマトグラフで分析し、これら化学物質の暴露量を推定する。

## 8. 成育コホート集団の検討：

成育医療センターで実施中の成育コホート集団（現在約1,700名）における胎児期暴露量を、詳細に聴取した食事内容や生活様式に基づいて推定する。また、5歳時に予定されている採血時にも環境化学物質測定を行う。

## 倫理面への配慮

ヒト検体を使用する際には、文部科学・厚生労働・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して研究を実施する。ヒト検体を採取する際には、試料等提供者のプライバシーの保護、検体提供の任意性、研究参加者の利益および不利益、提供を受けた検体の取り扱い方、得られる研究成果の医学的貢献度等について、試料等提供者ないしはその保護者に充分説明したうえで、文書により同意を得る。また、試料等の提供を求める際に、説明文書を用いて分かりやすく、かつ十分に説明し、必要に応じて遺伝カウンセリングを行う。なお、本研究に関連する内容は、全て倫理委員会の承認済あるいは申請中である。

動物実験については、すべて「国立医薬品食品衛生研究所・動物実験の適正な実施に関する規定（平成19年4月1日改正）」に基づいて審査が行われ、許可が与えられた上で実施されている。

## 倫理委員会承認済課題

国立成育医療センター：「性分化・成熟異常症および生殖機能障害における疾患感受性遺伝子多型および薬剤応答性遺伝子多型の探索」、「性分化異常症における原因遺伝子の検索」、「生殖機能障害の遺伝子解析」、「胎児期における化学物質被曝と軽度発達障害との関連性の解明に向けての検討」、「子宮内胎児発育異常の遺伝子・ゲノム解析」

独立行政法人国立環境研究所：「性分化・成熟異常症および生殖機能障害における疾患感受性遺伝子多型および薬剤応答性遺伝子多型の探索」のサブ課題「性分化・成熟異常症および生殖機能障害における薬剤応答性遺伝子多型の解析」

名古屋市立大学：「泌尿器科疾患ゲノム解析プロジェクト」、「性分化異常症・外性器異常疾患に関わる遺伝子発現・多型・変異に関する研究」

## C. 研究結果

### 1. エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子 (ESR1) における外陰部異常症感受性ハプロタイプの解析：

以下の成果が得られた。(1) 感受性ハプロタイプにおいて2,244 bpの微小欠失を同定した。さらに、患者と正常者計約1000例の解析をおこない、この感受性ハプロタイプと微小欠失が絶対連鎖不平衡を示すことを見いだした。すなわち、感受性ハプロタイプでは必ずこの微小欠失が存在し、非感受性ハプロタイプでは必ずこの微小欠失が存在しない。この絶対連鎖不平衡という現象は、極めて稀にしか認められないものであり、これは、この微小欠失こそが、感受性亢進を招く本質であることを示唆する強力なデータである。(2) イアタリア人男児（外陰部異常症患者186例と正常男児150例）を対象とする解析により、同じ欠失が人種を超えて外陰部異常症発症のリスク因子であることを見いだした ( $P=0.0066$ 、オッズ比4.48)。これは、この欠失の重要性を決定づけるデータである。(3) ESR1が通常解析しえる末梢血においてほとんど発現していないため、この欠失をホモで保有する患者と非保有者患者において、尿道下裂手術時に外陰部皮膚繊維芽細胞を樹立し、発現解析に着手した。しかし、外陰部皮膚繊維芽細胞でもESR1発現が極めて弱いため、現在、エストロゲン負荷による発現誘導を行うことで、この欠失がESR1発現に与える影響を、スプライズバリエーションやmRNAの安定性の観点から解析を行っている。(4) マウス *Esrl* 遺伝子の当該部位に、この欠失部位周辺の約7 kbをノックインしたES細胞を樹立し、キメラマウスを作製をした。そして、最終年度、ようやく健常イントロンのノックインマウスが樹立できた。一方、高感受性型欠失陽性イントロンの非キメラ型ノックインマウスは誕生せず、何らかの原因で、高感受性型欠失陽性イントロンを有する細胞が50%を超えるキメラマウスは致死的になることが判明した。したがって、この微小欠失が何らかの重要な機能を持つことが示された。

### 2. ESR1における外陰部異常症感受性ハプロタイプの世代間解析：

健常成人男性432例と健常小児82例の解析から、健常者におけるリスクハプロタイプ保有頻度が有意に成人年代に多いことが確認された ( $P=0.034$ 、オッズ比1.53)。これは、環境化学物質の暴露量増加が疾患発症に関与することを示唆する。現在、正常小児検体を入手することは倫理的に困難であるが、20-40歳および50歳以上の正常成人検体を約1000例入手し、解析を行っている。

### 3. エストロゲン受容体 $\beta$ 遺伝子 (ESR2) における精子形成障害感受性ハプロタイプの同定：

精子形成障害患者125例と妊孕性正常男性119例の解析から、ESR2に約60 kbのハプロタイプブロックが存在し、その中の特定ハプロタイプが感受性因子として作用することを世界で初めて見いだした ( $P=0.0028$ 、オッズ比1.77、95%信頼区間1.21-2.61)。これは、精子



形成障害における遺伝的感受性の存在を明確とするものである。さらに、ESR1では精子形成障害と有意の関連が見られないことが判明し、ESR2の重要性が明確となった。

#### 4. 化学物質応答遺伝子群の網羅的解析：

日本人患者248名（停留精巣116名、尿道下裂98名及びマイクロペニス34名）と正常者141名において、アンドロゲン効果関連遺伝子群（AR, SRD5A2, CYP15A1, CYP17A1, 3βHSD-I, 17βHSDなど）、ダイオキシン効果関連遺伝子群（AHR, AHRR, ARNT, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP17A1, CYP19A1, CYP2B6, CYP3A4など）、bisphenolA受容体遺伝子とされるNR1I2を含む96個のSNP解析を行った。χ<sup>2</sup>二乗検定による症例対対照の二群比較で、いずれかの疾患においてP値0.05で有意差が認められたSNPを含む5遺伝子AHR, ARNT2, CYP17A1, CYP1A2, NR1I2の合計32個のSNPについて、さらに、トレンド解析およびオッズ比を求めた。

その結果、トレンド解析で0.01以下のP値を示したSNPは、停留精巣では、CYP17A1 rs4919686 (P=0.011) およびARNT2 rs5000770 (P=0.00073)、尿道下裂では、CYP1A2 rs2069521 (P=2.29E-6)及びARNT2 rs2278705 (P=0.00039)、rs5000770、マイクロペニスでは、CYP1A2 rs2069522 (P=0.014)、rs2069526 (P=0.014)、rs762551 (P=0.012) rs4646425 (P=0.00557)、rs4646427 (P=0.00443)、ARNT2 rs5000770 (P=0.012)であった。オッズ比の解析で2.0以上の値が認められたものは、停留精巣では、NR1I2 rs1403526、rs2472680、CYP17A1 rs4919686、rs6163、rs2278705、ARNT2 rs2278705、rs5000770、rs7183507、rs7178949、rs11072922、尿道下裂では、NR1I2 rs2461823、CYP17A1 rs17115149、CYP1A2 rs2069521、rs2069522、ARNT2 rs2278705、rs5000770、rs1107922、マイクロペニスでは、CYP1A2 rs2069521、rs2069522、rs2069526、rs762551、rs4646425、rs4646427、ARNT2 rs4778597、rs7183507、rs7178949、rs11072922であった。さらに、日本人と上記イタリア人集団に共通する感受性SNPがAhRで2個とAmt2で1個、NR1I2で3個検出された。

#### 5. 標的組織におけるメチル化解析：

尿道下裂患者25例の外陰部皮膚組織を用いて種々の遺伝子のプロモーター領域のメチル化解析を行った。解析した検体中13サンプルでSRD5A2の十分なメチル化ステータスデータが得られた。これら検体のSRD5A2 mRNAレベルをリアルタイムRT-PCRで測定したところ、メチル化頻度と発現レベルに弱い負の相関があることがわかった ( $R^2=0.4053$ ,  $P=0.019$ )。CYP1A1遺伝子でもメチル化頻度を調べたが、解析した全てのサンプルでメチル化はほとんど観察されなかった。CYP1A1はダイオキシン等のAhR標的化合物の

曝露バイオマーカーとなりうるが、そのmRNA発現レベルには、個体間で大きな違いが見られるものの、SRD5A2メチル化頻度との相関性は認められなかった。また、ARプロモーター領域に関してもほぼ非メチルであることがわかった。

さらに、網羅的DNAメチル化解析手法のとして、メチル化感受性制限酵素とT7アダプター結合によるPCR増幅を利用したメチル化部位特異的ラベリング法を開発した。すでに頻度の異なることがわかっている2つのサンプルを用い、処理後にラベリングして、標的プロモーター配列のオリゴを結合したカスタムアレイで競合ハイブリによる検証をしたところ、十分な蛍光強度差が得られることがわかった。本法はゲノム中のどの部位がメチル化されているのかという判定のみならず、2サンプル間においてどちらが特定の領域でメチル化頻度が高いかの定量的解析に適していると思われる。米国仮出願を行った。

また、われわれが同定し尿道下裂発症責任遺伝子MAMLD1のプロモーターにダイオキシン反応部位とCpGアイランドが存在することから、マウス胎仔のダイオキシン暴露実験を行い、精巣サンプルのメチル化解析を開始した。

#### 6. ダイオキシン暴露と外陰部異常症の関連の解析 (MAMLD1/Mamld1 遺伝子解析)：

Mamld1遺伝子ノックダウンでテストステロンが低下すること、そして、そのホルモン低下が17α水酸化酵素の活性低下によることが示された。さらに、テストステロン産生酵素遺伝子群の発現量解析から、ノックダウンにより、17α水酸化酵素をコードするCYP17A1の発現低下を生じていることを示した。次いで、In silico解析により、MAMLD1遺伝子プロモーター領域には、エピジェネティック修飾の代表であるメチル化の標的となるCpGアイランドが存在すること、また、その周辺にダイオキシン受容体であるアリールハイドロカーボン受容体反応性エレメントが存在することを示した。さらに、mamld1ノックアウトマウスの作製に成功し、胎児期ダイオキシン暴露実験を野生型マウスとノックアウトマウスで行い、Mamld1の有無によりダイオキシン暴露の影響が異なるか否かを解析中である。

#### 7. 化学物質濃度測定：

男児生殖器に影響を及ぼす可能性のある化学物質として、抗アンドロゲン作用、エストロゲン作用をもつことが知られている尿中の代謝産物19物質〜フタル酸メチル、フタル酸エチル、フタル酸nブチル、フタル酸nペンチル、フタル酸nヘキシル、フタル酸nオクチル、フタル酸1-2-エチルキシル、フタル酸1-(2-エチル-5-ヒドロキシ)キシル、フタル酸1-(2-エチル-5-オキシ)キシル、3-フェニル安息香酸、1-OHP、1-ヒドロキシピレン PAH (ピレン) 代謝産物、p-tert-ブチル安息香酸 (p-tert-ブチル代謝産物) など〜をLCMS/MSあるいはGC/MSにより定量する基礎的検

討を行なった。機器分析手法を用いた検出下限、測定再現性、添加回収率などの基本的な分析化学的検討を各物質の標準溶液を用いて行い、20mLの尿があれば、これら19種の化学物質濃度を測定することができることが確認された。

## 8. 成育コホート集団の検討：

国立成育医療センターで出産を予定した妊婦を対象に出生コホート研究への参加を依頼し文書にて同意が得られた約1701名から実際に出産を行い出産後に継続の意思のあった1503名の母親とその児1549名を対象にアンケート調査を行っている。今年度は昨年度から開始した5歳時点での健診を継続し、身長や体重などの測定に加えて外陰部や皮膚のチェックを行い、化学物質の測定のため血液検体を採取した。また、今年度は6歳時点の成長発育と健康に関するアンケート調査を開始した。これにより、現在の小児の暴露量を直接測定することが可能となった。

## D. 考察

上記のデータは、男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質の関連性を、個体感受性と暴露量の観点から解明する上で重要な情報を与えるものである。第1に、暴露量がほぼ同等であると推測される現在の小児における患者—対照研究により感受性因子が従来の毒性解析や動物実験では検討しえなかった感受性因子の存在が明らかとなってきた。例えば、エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子(ESR1)における外陰部異常症感受性ハプロタイプの解析では、世界で初めて遺伝的感受性の本態が明らかになりつつある。さらに、多数の感受性多型が同定され、感受性の分子機構の複雑さが確認されると同時に、遺伝子間相互作用の同定へも道筋が見えてきた。また、エストロゲン受容体 $\beta$ 遺伝子(ESR2)における精子形成障害感受性の存在が世界で初めて明確となってきた。さらに、上記の成果は、環境化学物質の影響のみならず、骨粗しょう症、乳がん、初老期うつ病など、多くのエストロゲン依存性疾患発症の解明などにつながると期待される。第2に、ESR1感受性因子の頻度を異なる世代間で比較したデータは、感受因子と暴露量が相互作用することを明確としつつある。これは、現在の小児が、暴露量の増加により同等の高感受性素因のもとでも疾患を生じ易いことを示唆するデータあり、現在の小児集団と成人集団(ならぶに高齢集団)が生活した時代の化学物質産生量データをもとに、高感受性集団が健康で過ごすことのできる暴露量遺伝子既知の設定に役立つと考えられる。第3に、従来少数の動物実験でのみ報告されていた環境化学物質とメチル化異常の関係が明らかとなりつつある。これは、遺伝的感受性と異なり、全ての個体に生じうると考えられ、より普遍性を持つ内容となる可能性がある。また、環境化学物質がエピジェネティクス変化を介して、疾患発症を招く可能性を示

唆するものである。第4に、ダイオキシン暴露によるエピジェネティック修飾を解明する上でMAMLD1が有力な分子であることが判明した。第5に、妊婦尿を用いた環境化学物質測定法の確立は、本研究で検討・確立した尿分析法を用いることで、男児生殖影響に関する化学物質曝露と個体感受性を包括的に評価するコホート内患者—対照研究へと発展させることができる。例えば、今後、暴露量と陰—肛門管距離などの男性化指標との関連性解析に有用であると期待される。最後に、成育コホート研究との連動を含めて、環境化学物質暴露量の測定と検体保管体制が整備されつつある。特に、正常児の採血により、現在の小児の暴露量を直接測定することが可能となったことの意義は大きいと考えられる。以上、本研究は、当初の目標を十分に達成していると考えられる。

## E. 結論

男児外陰部異常症および生殖機能障害と化学物質の関連性を、個体感受性と暴露量の観点から解明する上で重要な進展が見られた。

## F. 発表論文 (2008-2010 年度)

### 1. 論文発表

1. Matsubara K, Iwamoto H, Yoshida A, Ogata T. Semen analysis and successful paternity by intracytoplasmic sperm injection in a man with steroid 5 $\alpha$ -reductase-2 deficiency. *Fertil Steril* 2010 May 19. [Epub ahead of print].
2. Fukami M, Nagai T, Mochizuki H, Muroya K, Yamada G, Takitani K, Ogata T. Anorectal and urinary anomalies and aberrant retinoic acid metabolism in cytochrome P450 oxidoreductase deficiency. *Mol Genet Metab* 100 (3): 269–273, 2010.
3. Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T. The IG-DMR and the MEG3-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as imprinting control centers. *PLoS Genet* 6 (6): e1000992, 2010.
4. Fukami M, Nishimura G, Homma K, Nagai T, Hanaki K, Uematsu A, Ishii T, Numakura C, Sawada H, Nakacho M, Kowase T, Motomura K, Haruna H, Nakamura M, Ohishi A, Adachi M, Tajima T, Hasegawa Y, Hasegawa T, Horikawa R, Fujieda K, Ogata T. Cytochrome P450 oxidoreductase deficiency: identification and characterization of biallelic mutations and genotype-phenotype correlations in 35 Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab* 94 (5): 1723–1731, 2009.
5. Kagami M, Sekita Y, Nishimura G, Irie M, Kato F, Okada M, Yamamori S, Kishimoto H, Nakayama M, Tanaka Y, Matsuoka K, Takahashi T, Noguchi M, Tanaka Y, Masumoto K, Utsunomiya T, Kouzan H,

- Komatsu Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kosaki K, Ferguson-Smith AC, Ishino F, Ogata T. Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes. *Nat Genet* 40 (2): 237-242, 2008.
6. Fukami M, Wada Y, Okada M, Kato F, Katsumata N, Baba T, Morohashi K, Laporte J, Kitagawa M, Ogata T. Mastermind-like domain-containing 1 (*MAMLD1* or *CXorf6*) transactivates the *Hes3* promoter, augments testosterone production, and contains the *SF1* target sequence. *J Biol Chem* 283 (9): 5525-5532, 2008.
  7. Ogata T, Wada Y, Fukami M. *MAMLD1 (CXorf6)*: a new gene for hypospadias. *Sex Dev* 2 (4-5): 244-250, 2008.
  8. 緒方勤: エストロゲン様内分泌攪乱化学物質と男性性機能低下: 疫学データと個体感受性解析. 日小児泌会誌 16 (2): 130-135, 2008.
  9. 緒方勤: 男児外陰部異常症および精子形成障害と内分泌攪乱化学物質感受性: エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子のハプロタイプ解析. 医のあゆみ 225 (9) (第5土曜特集: 臨床ゲノム研究—成果と課題): 954-959, 2008.
  10. 緒方勤: 小児疾患と環境化学物質: 遺伝—環境相互作用の観点から. 科学. 岩波書店 79: 982-983, 2009.
  11. Ohsako S., Fukuzawa N., Ishimura R., Kawakami T., Wu Q., Nagano R., Zaha H., Sone H., Yonemoto J., and Tohyama C. Comparative contribution of the aryl hydrocarbon receptor gene to perinatal stage development and dioxin-induced toxicity between the urogenital complex and testis in the mouse. *Biol Reprod* 82, 636-643, (2010).
  12. Alam MS., Ohsako S., Matsuwaki T., Zhu XB., Tsunekawa N., Kanai Y., Sone H., Tohyama C., and Kurohmaru M. Induction of spermatogenic cell apoptosis in prepubertal rat testes irrespective of testicular steroidogenesis: A possible estrogenic effect of di(n-butyl) phthalate. *Reproduction* 139, 427-437, (2010).
  13. Ishihara K, Ohsako S, Tasaka K, Harayama H, Miyake M, Warita K, Tanida T, Mitsunashi T, Namori T, Tabuchi Y, Yokoyama T, Kitagawa H, and Hoshi N. When does the sex ratio of offspring of the paternal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) exposure decrease: In the spermatozoa stage or at fertilization? *Reprod Toxicol* 29, 68-73, (2010).
  14. Ishimura R, Kawakami T, Ohsako S, and Tohyama C. Dioxin-induced toxicity on vascular remodeling of the placenta. *Biochemical Pharmacol*, (2009), 77, 660-669.
  15. Kawakami T, Ito T, Ohsako S, Shiizakia K, Murakami Y, Hirowatarid K, Sato M, and Tohyama C. Possible Involvement of arylhydrocarbon receptor variants in TCDD-induced thymic atrophy and XRE-dependent transcriptional activity in Wistar Hannover GALAS rats. *J Toxicol Sci*, (2009), 34, 209-220.
  16. Wu Q., Suzuki J.S., Zaha H., Lin T-M., Peterson R.E., Tohyama C., and Ohsako S. Differences in gene expression and benzo[a]pyrene-induced DNA adduct formation in the liver of three strains of female mice with identical AhRb2 genotype treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and/or benzo[a]pyrene. *J Applied Toxicol*, (2008), 28, 724-733.
  17. Shiizaki K, Ohsako S, Kawanishi M, and Yagi T. Omeprazole alleviates benzo[a]pyrene cytotoxicity by inhibition of CYP1A activity in human and mouse hepatoma cells. *Basic Clinical Pharmacol Toxicol*, (2008), 103, 468-475.
  18. Sakata Y., Yoshioka W., Tohyama C., and Ohsako S. Internal genomic sequence of human CYP1A1 gene is involved in superinduction of dioxin-induced CYP1A1 transcription by cycloheximide. *Biochem Biophys Res Comm*, (2007), 355, 687-692.
  19. Sone H, Akanuma H, Fukuda T. Oxygenomics in environmental stress. *Redox Rep*. 2010;15(3):98-114.
  20. Mitsunashi T, Yonemoto J, Sone H, Kosuge Y, Kosaki K, Takahashi T. In utero exposure to dioxin causes neocortical dysgenesis through the actions of p27Kip1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Sep 14;107(37):16331-5.
  21. Sone H, Okura M, Zaha H, Fujibuchi W, et al. pCEC: a toxicogenomics database with a toxicoinformatics system for risk evaluation and toxicity prediction of environmental chemicals. *J Tox Sci*, 2010;35(1):115-23.
  22. Alam MS, Ohsako S, Matsuwaki T, Zhu XB, Tsunekawa N, Kanai Y, Sone H, Tohyama C and Kurohmaru M. (2010) Induction of spermatogenic cell apoptosis in prepubertal rat testes irrespective of testicular steroidogenesis: A possible estrogenic effect of di (n-butyl) phthalate. *Reproduction*. 139: 427-437.
  23. Fujibuchi W, Kim H, Okada Y, Taniguchi T, Sone H. (2009) High-performance gene expression module analysis tool and its application to chemical toxicity data. *Methods Mol Biol* 577:55-65.
  24. Sone H, Imanishi S., Nagano R., Akanuma H., Fukuda T., Ohsako S. (2009) Gene expression signatures of environmental chemicals in cancer and in developmental disorders. In: *Biophys.Soc.China(BSC)ed. The Roles of Free radicals in Biology and Medicine. Medimond S.r.l.*, 45-52.
  25. Kakeyama M, Sone H, and Tohyama C. Perinatal exposure of female rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces central precocious puberty in the offspring. *J Endocrinol*. 2008, 197, 351-358.
  26. Tanaka J, Yonemoto J, Zaha H, Kiyama R and Sone H. (2007) Estrogen-responsive genes newly found to be modified by TCDD exposure in human cell lines and mouse systems. *Mol Cell Endocrinol*. Jun 30; 272(1-2):38-49.
  27. Y. Suzuki, M. Niwa, J. Yoshinaga, C. Watanabe, Y. Mizumoto, S. Serizawa, H. Shiraishi (2009) Exposure assessment of phthalate esters in Japanese pregnant women by using urinary metabolite analysis. *Environ*.

- Health Prev. Med., 14: 180-187.
28. X.Y. Qin, H. Zaha, J. Yoshinaga, J. Yonemoto, H. Sone (2009) Association of AHR- and ESR1-responsive gene variations with susceptibility to endocrine-disrupting chemicals in risk of male genital disorders. *Organohalogen Compounds* 71: 372-376.
  29. Y. Suzuki, M. Niwa, J. Yoshinaga, Y. Mizumoto, S. Serizawa and H. Shiraiishi (2010) Prenatal exposure to phthalate esters and PAHs and birth outcomes. *Environ. Int.*, 36: 699-704
  30. M. Niwa, Y. Suzuki, J. Yoshinaga, C. Watanabe, Y. Mizumoto (in press) Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and birth outcomes. *Polycyclic Aromatic Compounds*
  31. Kojima Y, Kohri K, Hayashi Y. Genetic pathway of external genitalia formation and molecular etiology of hypospadias. *J Pediatr Urol.* 6:346-354,2010.
2. 平成 21 年 10 月 13 日米国特許出願 Patent No: US 7,601,828 B2. Estrogen receptor alpha gene, genomic DNA, and diagnosis marker
  3. 大迫誠一郎、栗田尚佳。「CpG メチル化頻度の変動をゲノムワイドに比較解析するための DNA 試料作成方法」, 米国仮出願 (出願番号: 61/309971) (2010).

## 2. 学会発表など：招待講演

1. Ogata T, Fukami M, Wada Y, Yoshida R, Watanabe M: Haplotype analysis of the estrogen receptor  $\alpha$  gene in male genital and reproductive abnormalities. Royan Institute Award Lecture. In: The Royan International Twin Congress (The 9th Congress on Reproductive Biomedicine and The 4th Congress on Stem Cell Biology and Technology). August 27–29, 2008. Tehran, Iran.
2. Ogata T: ESR1 and cryptorchidism/hypospadias (the susceptibility to environmental disruptors). In: The Third Workshop Pediatric Andrology. January 15–16, 2009. Liestal (Basel), Switzerland.
3. Ogata T: Endocrine Disruptors – the environment and its impact on paediatric endocrinology. In: Hot Topic Session. The 6<sup>th</sup> Biennial Scientific Meeting of The Asia Pacific Paediatric Endocrinology. November 17–20, 2010. Xi'an, China.
4. 緒方勤: 子どもを取り巻く環境と健康. 環境省化学物質の環境リスクに関する国際シンポジウム基調講演. 2008 年 12 月 14–15 日, 東京.
5. 緒方勤: 男性性功能低下と環境化学物質. 厚生労働科学研究費 化学物質リスク研究事業会議特別講演. 2009 年 12 月 3 日, 東京.
6. 緒方勤: 化学物質と生殖機能障害. 厚生労働省シンポジウム健康と化学物質: 化学物質と幼児行動. 2009 年 2 月 7 日, 東京, 2009 年 3 月 4 日, 名古屋.
7. 緒方勤: エコチル調査における遺伝医学研究. 日本人類遺伝学会第 55 回大会シンポジウム: 小児環境疫学(エコチル)調査と遺伝医学. 2010 年 10 月 27–30 日, 大宮.

## G 知的所有権の取得状況

1. 曾根秀子・大迫誠一郎・永野野麗子・今西聡・宮崎航. 特願 2009-81497 (識別番号 1 0 0 0 7 8 6 6 2) 「胎生プログラミングに対する影響を評価するための方法」, (2008).

研究成果の刊行一覧表

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Matsubara K, Iwamoto H, Yoshida A, Ogata T.	Semen analysis and successful paternity by intracytoplasmic sperm injection in a man with steroid 5 $\alpha$ -reductase-2 deficiency.	<i>Fertil Steril</i>	19-May	[Epub ahead of print]	2010
Inoue H, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K	Identification and functional analysis of novel human growth hormone-releasing hormone receptor (GHRHR) gene mutations in Japanese subjects with short stature.	<i>Clin Endocrinol</i>	Nov 2.	[Epub ahead of print]	2010
Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Matsubara K, Hata K, Horikawa R, Ogata T:	Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes. <i>J Hum Genet</i>	<i>Androgenetic /bipare J Hum Genet</i>	Nov 11.	[Epub ahead of print]	2010
Inoue H, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K.	Identification and functional analysis of novel human growth hormone secretagogue receptor (GHSR) gene mutations in Japanese subjects with short stature	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	Nov 17	[Epub ahead of print]	2010
Suzumori N, Ogata T, Mizutani E, Hattori Y, Matsubara K, Kagami M	Suguhara-Ogasawara M. Prenatal diagnosis of paternal uniparental disomy 14: delineation of further patient.	<i>Am J Med Genet</i>	Nov 17.	[Epub ahead of print]	2010
Suzumori N, Ogata T, Mizutani E, Hattori Y, Matsubara K, Kagami M, Suguhara-Ogasawara M	Prenatal diagnosis of paternal uniparental disomy 14: delineation of further patient.	<i>Am J Med Genet</i>	A 152A (12):	3189-3192,	2010
Dateki S, Kosaka K, Hasegawa K, Tanaka H, Azuma N, Yokoya S, Muroya K, Adachi M, Tajima T, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Sato N, Fukami M, Ogata T.	Heterozygous OTX2 mutations are associated with variable pituitary phenotype. <i>J</i>	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	95 (2):	756-764	2010

## 別紙4

Fukami M, Maruyama T, Dateki S, Sato N, Yoshimura Y, Ogata T.	Hypothalamic dysfunction in a female with isolated hypogonadotropic hypogonadism and compound heterozygous TACR3 mutations and clinical manifestation in her	<i>Horm Res Peediatr</i>	73 (6)	477-48	2010
Muroya K, Mochizuki T, Fukami M, Iso M, Fujita K, Ogata T	Diabetes mellitus in a Japanese girl with HDR syndrome and GATA3 mutation	<i>Endocr</i>	J 157 (2)	171-174	2010
Fukami M, Nagai T, Mochizuki H, Muroya K, Yamada G, Takitani K, Ogata T	<i>Anorectal and urinary anomalies and aberrant retinoic acid metabolism in cytochrome P450 oxidoreductase deficiency</i>	<i>Mol Genet Metab</i>	100 (3)	269-273	2010
Ashkenazi-Hoffnung L, Lebenthal Y, Wyatt AW, Ragge NK, Dateki S, Fukami M, Ogata T,	Phillip M, Gat-Yablonski G. A novel loss of function mutation in OTX2 is associated with phenotypically variable anophthalmia and isolated growth hormone deficiency.	<i>Hum Genet</i>	127 (6)	721-729	2010
Iijima K, Nozu K, Kamei K, Nakayama M, Ito S, Matsuoka K, Ogata T, Kaito H, Nakanishi K, Mastuo M. Severe Alport	syndrome in a young woman caused by a t(X;1)(q22.3;p36.32) balanced translocation.	<i>Pediatr Nephrol</i>	25 (10):	2165-2170	2010
Dateki S, Fukami M, Uematsu A, Kaji M, Iso M, Ono M, Mizota M, Yokoya S, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Ogata T	Mutation and gene copy number analyses of six pituitary transcription factor genes in 71 patients with combined pituitary hormone deficiency: identification of a single patient with LHX4 deletion.	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	95 (8)	4043-4047	2010
Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T.	The IG-DMR and the MEG3-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as imprinting control centers	<i>PLoS Genet</i>	6 (6):	e1000992,	2010
Yamazawa K, Ogata T	Ferguson-Smith AC: Uniparental disomy and human disease: an overview.	<i>Am J Med Genet C (Seminars in Medical Genetics)</i>	154C (3):	329-334	2010

## 別紙4

Yamazawa K, Nakabayashi K, Kagami M, Sato T, Saitoh S, Horikawa R, Hizuka N, Ogata T.	Parthenogenetic chimaerism/mosaicism with a Silver-Russell Syndrome-like Phenotype	<i>J Med Genet</i>	47 (11)	782–785,	2010
Kato H, Yoshida R, Tsukamoto K, Suga H, Eto H, Higashino T, Araki J, Ogata T, Yoshimura K	Familial cases of atypical clinical features genetically diagnosed as LEOPARD syndrome (multiple lentiginos syndrome)	<i>Int J Dermatol</i>	49 (10):	1146–1151,	2010
Sugawa F, Wada Y, Maruyama T, Uchida H, Ishizuka B, Ogata T	. Premature ovarian failure and androgen receptor gene CAG repeat lengths weighted by X chromosome inactivation patterns.	<i>Fertil Steril</i>	91 (2):	649–652	2009
Jongmans MC, van Ravenswaaij-Arts CM, Pitteloud N, Ogata T, Sato N	Claahsen-van der Grinten HL, van der Donk K, Seminara S, Bergman JE, Brunner HG, Crowley WF Jr, Hoefsloot LH. CHD7 mutations in patients initially diagnosed with Kallmann syndrome - the clinical overlap with CHARGE syndrome.	<i>Clin Genet</i>	75 (1)	: 65–71	2009
Hayakawa K, Katsumata N, Abe K, Hirano M, Yoshikawa K, Ogata T, Horikawa R, Nagamine T.	Wide range of biotin (vitamin H) content in the foodstuffs and powdered milks as assessed by the high-performance affinity chromatography	<i>Clin Pediatr Endocrinol</i>	18 (1)	41–49	2009
Kobayashi H, Yamada K, Morita S, Hiura H, Fukuda A, Kagami M, Ogata T, Hata K, Sotomaru Y, Kono T.	Identification of the mouse paternally expressed imprinted gene Zdbf2 on chromosome 1 and its imprinted human homolog ZDBF2 on chromosome	<i>Genomics</i>	93 (5)	461–472, 2	2009
Ogata T, Laporte J, Fukami M.	MAMLD1 (CXorf6): a new gene involved in hypospadias.	<i>Horm Res Paediatr</i>	71 (5)	245–252,	2009



## 別紙4

Fukami M, Nishimura G, Homma K, Nagai T, Hanaki K, Uematsu A, Ishii T, Numakura C, Sawada H, Nakacho M, Kowase T, Motomura K, Haruna H, Nakamura M, Ohishi A, Adachi M, Tajima T, Hasegawa Y, Hasegawa T, Horikawa R, Fujieda K, Ogata T	Cytochrome P450 oxidoreductase deficiency: identification and characterization of biallelic mutations and genotype-phenotype correlations in 35 Japanese patients	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	94 (5):	1723–1731,	2009
Sim SC, Miller WL, Zhong XB, Arlt W, Ogata T, Ding X, Wolf CR, Flück CE, Pandey AV, Henderson CJ, Porter TD, Daly AK, Nebert DW, Ingelman-Sundberg M	Nomenclature for alleles of the cytochrome P450 oxidoreductase gene	<i>Pharmacogenet Genomics</i>	19 (7)	565–566	2009
Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M, Uetake K, Tohyama J, Ogata T, Saitoh S.	Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype.	<i>J Pediatr</i>	155 (6)	900–90	2009
Wada Y, Nishimura G, Nagai T, Sawai H, Yoshikata M, Miyagawa S, Hanita T, Sato S, Hasegawa T, Ishikawa S, Ogata T.	Mutation analysis of <i>SOX9</i> and single copy number variant analysis of the upstream region in eight patients with campomelic dysplasia or acampomelic campomelic dysplasia.	<i>Am J Med Genet</i>	A 149A (12)	2882–2885	2009
Dateki S, Hizukuri K, Tanaka T, Katsumata N, Katavetin P, Ogata T	An immunologically anomalous but considerably bioactive growth hormone produced by a novel GH1 mutation (p.D116E).	<i>Eur J Endocrinol</i>	161 (2)	301–306	2009
Suzuki K, Haraguchi R, Ogata T, Barbieri O, Alegria O, Vieux-Rochas M, Nakagata N, Ito M, Mills AA, Kurita T, Levi G, Yamada G.	Abnormal urethra formation in mouse models of split-hand/split-foot malformation type 1 and type 4.	<i>Eur J Hum Gene</i>	16 (1)	2008	2009

Yamazawa K, Kagami M, Ogawa M, Horikawa R, Ogata T.	Placental hypoplasia in maternal uniparental disomy for chromosome 7	<i>Am J Med Genet</i>	A 146A (4)	514–516	2008
Kagami M, Sekita Y, Nishimura G, Irie M, Kato F, Okada M, Yamamori S, Kishimoto H, Nakayama M, Tanaka Y, Matsuoka K, Takahashi T, Noguchi M, Tanaka Y, Masumoto K, Utsunomiya T, Kouzan H, Komatsu Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kosaki K	Ferguson-Smith AC, Ishino F, <u>Ogata T</u> . Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes.	<i>Nat Genet</i>	40 (2)	237–242	2008
Sekita Y, Wagatsuma H, Nakamura K, Ono R, Kagami M, Wakisaka N, Hino T, Suzuki-Migishima R, Kohda T, Ogura A, Ogata T, Yokoyama M, Kaneko-Ishino T, Ishino F	Role of retrotransposon-derived imprinted gene, Rtl1, in the feto-maternal interface of mouse placenta.	<i>Nat Genet</i>	40 (2)	243–248	2008
Fukami M, Wada Y, Okada M, Kato F, Katsumata N, Baba T, Morohashi K, Laporte J, Kitagawa M, Ogata T.	Mastermind-like domain-containing 1 ( <i>MAMLD1</i> or <i>CXorf6</i> ) transactivates the <i>Hes3</i> promoter, augments testosterone production, and contains the <i>SF1</i> target sequence.	<i>J Biol Chem</i>	283 (9)	5525–5532,	2008
Yoshida R, Ogata T, Masawa N, Nagai T.	Hepatoblastoma in a Noonan syndrome patient with a PTPN11 mutation	<i>Pediatr Blood Cancer</i>	50 (6)	1274–1276	2008
Fukami M, Dateki S, Kato F, Hasegawa Y, Mochizuki H, Horikawa R, Ogata T	Identification and characterization of cryptic <i>SHOX</i> intragenic deletions in three Japanese patients with Leri-Weill dyschondrosteosis.	<i>J Hum Genet</i>	53 (5)	454–459	

Hosoki K, Ogata T, Kagami M, Tanaka T, Saitoh S. Epimutation (hypomethylation) affecting the chromosome 14q32.2 imprinted region in a girl with upd(14)mat-like phenotype	Eur J Hum Genet	16 (8):	1019–1023	2008	
Iso M, Fukami M, Horikawa R, Azuma N, Kawashiro N, Ogata T.	SOX10 mutation in Waardenburg syndrome typeII.	<i>Am J Med Genet</i>	A 146A (16)	2162–2163,	
Yamazawa K, Kagami M, Nagai T, Kondoh T, Onigata K, Maeyama K, Hasegawa T, Hasegawa Y, Yamazaki T, Mizuno S, Miyoshi Y, Miyagawa S, Horikawa R, Matsuoka K, Ogata T	Molecular and clinical findings and their correlations in Silver-Russell syndrome: implications for a positive role of IGF2 in growth determination and differential imprinting regulation of the IGF2-H19 domain in bodies	<i>J Mol Med (JMM)</i>	86 (10):	1171–1181	2008
Dateki S, Fukami M, Sato N, Muroya K, Adachi M, Ogata T.	<i>OTX2</i> Mutation in a patient with anophthalmia, short stature, and partial growth hormone (GH) deficiency: functional studies using the <i>IRBP</i> , <i>HESX1</i> , and <i>POU1F1</i> promoters.	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	93 (10):	3697–3702	2008
Kagami M, Yamazawa K, Matsubara K, Matuo N, Ogata T	Placentomegaly in paternal uniparental disomy for human chromosome 14.	<i>Placenta</i>	29 (8)	760–761	2008
39. Yamazawa K, Kagami M, Fukami M, Matsubara K, Ogata T.	Monozygotic female twins discordant for Silver-Russell syndrome and hypomethylation of the <i>H19</i> -DMR	<i>J Hum Genet</i>	53 (10):	950–955,	2008

別紙4

Hayakawa K, Katsumata N, Hirano M, Yoshikawa K, Ogata T, Tanaka T, Nagamine T.	Determination of biotin (vitamin H) by the high-performance affinity chromatography with a trypsin-treated avidin-bound column.	<i>J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci</i>	15; 869 (1-2):	93-100,	2008
41. Yoshida R, Ogata T	A novel A461S mutation of <i>PTPN11</i> in a female with LEOPARD syndrome	<i>Clin Pediatr Endocrinol</i>	17 (4):	121-122	2008
da Rocha ST, Edwards CA, Ito M, Ogata T,	Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting at the mammalian <i>Dlk1-Dio3</i> domain.	<i>Trends Genet</i>	24 (6)	306-16,	2008
Ogata T.	Progress in analysing disorders of sexual development: Preface.	<i>Sex Dev 2</i>	(4-5): 171		2008
Ogata T, Wada Y, Fukami M.	<i>MAMLD1 (CXorf6)</i> : a new gene for hypospadias	<i>Sex Dev 2</i>	(4-5)	244-250,	2008
Ogata T, Kagami M,	Ferguson-Smith AC. Molecular mechanisms regulating phenotypic outcome in paternal and maternal uniparental disomy for chromosome 14.	<i>Epigenetics</i>	3 (4)	181-187,	2008
Ogata T, Fukami M, Wada Y.	<i>MAMLD1 (CXorf6)</i> is a new gene for hypospadias.	<i>Clin Pediatr Endocrinol</i>	17 (4)	87-93	2008
Ogata T, Kagami M. Molecular mechanisms leading to the phenotypic development in paternal and maternal uniparental disomy for chromosome 14. <i>Clin Pediatr Endocrinol</i> 17 (4): 103-111.	M. Molecular mechanisms leading to the phenotypic development in paternal and maternal uniparental disomy for chromosome 14.	<i>Clin Pediatr Endocrinol</i>	17 (4)	103-111,	2008